

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA) CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	Periodo reportado	Elaborado por	Fecha de Emisión del Reporte
13202 13207 13208 13212 13221 13223 13232 13233	Octubre 2014- Enero 2015	MINERA PANAMÁ S.A.	10/02/2015

Informe Trimestral
Proyecto de Conservación Ex situ de Especies de Interés de Anfibios Minera Panamá S.A. y El Centro de Conservación de Anfibios de El Valle

Presentado por:
Edgardo J. Griffith
Supervisor de Proyecto
Departamento de Ambiente y Biodiversidad Minera Panamá S.A.



Período

1 de Octubre, 2014 al 31 Enero, 2015

1. Introducción

Según se estableció en el acuerdo formal celebrado entre Minera Panamá S.A. **(MPSA**) y The Houston Zoo Inc. (**HZI**) en el cual **MPSA** se compromete a financiar en su totalidad la construcción de espacio físico para ser anexadas a las instalaciones creadas y financiadas por **HZI**, de El Centro de Conservación de Anfibios de El Valle (**EVACC,** por sus siglas en inglés) ubicado en el zoológico El Níspero, El Valle de Anton, Coclé. Adicionalmente en el mencionado acuerdo **MPSA** se ha comprometido en proveer toda la coordinación logística necesaria, antes, durante y después (mientas el acuerdo se encuentre vigente) de que finalicen las actividades de rescate y translocación de Especies de Interés (**EdI**) de anfibios que ocurren dentro del área de la concesión del Proyecto Mina de Cobre Panamá.

El mencionado acuerdo, firmado en Marzo del 2011, ambas partes entienden la necesidad de crear espacio adicional a la infraestructura de **EVACC** y convienen en la construcción de un anexo, que consta de dos laboratorios con suficiente espacio físico (aproximadamente 20 m^2 cada uno) para alojar a los individuos de las cuatro **EdI** que necesitan ser rescatadas del área que será afectada directamente por las actividades de construcción del sitio de la mina y posterior extracción de cobre del Proyecto Mina de Cobre Panamá .

Teniendo en cuenta que el objetivo fundamental de éste acuerdo es el de trabajar en colaboración para lograr rescatar y conservar especies de anfibios de interés o amenazados, dentro área del proyecto, en el distrito de Donoso, provincia de Colón. Concentrándonos en aquellas especies cuyas poblaciones se verán afectadas por las actividades de extracción mineral a desarrollarse en ésta zona, se encuentren amenazados de extinción o que de alguna manera sus poblaciones hayan experimentado declinaciones masivas en los últimos años por la acción del hongo quitridio y/o pérdida del hábitat.

En este informe se reportan las actividades más sobresalientes ejecutadas durante los cuatro últimos meses y que están encaminadas a lograr la ejecución exitosa del vigente acuerdo, entre **Minera Panamá S.A. y The Houston Zoo Inc-EVACC** y lograr de esta forma, reducir los riesgos de extinción que enfrentan nuestras especies. Además, se reportan las actividades realizadas conjuntamente con el personal de la instalación en Gamboa del Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios (**PARC**), el cual es un proyecto llevado por El Instituto Smithsoniano de Investigaciones Tropicales en Panamá, y el cual mantiene también formal acuerdo de cooperación con Minera Panamá S.A.

2. Actividades (Trabajos de campo)

Desde el día 1 de Octubre al 31 de Diciembre 2014, realizamos un total de 12 giras de campo a 4 sitios diferentes dentro del área del Proyecto Mina de Cobre Panamá. Las giras de campo realizadas han sido efectuadas en horarios diurnos y nocturnos, y las mismas tienen como objetivo buscar, rescatar o colectar **EdI—Anfibios,** las cuales se integrarían al programa de manejo *ex situ* que llevamos a cabo en El Centro de Conservación de Anfibios de El Valle, lo cual forma parte de lo acordado entre MPSA y The Houston Zoo Inc. Estos trabajos de campo también nos permiten verificar la presencia o ausencia de las **EdI—Anfibios** dentro de un área específica del área de desarrollo del Proyecto, lo cual es absolutamente necesario para tener un mejor conocimiento de la distribución real de dichas especies dentro del **PCP.** Adicionalmente, y como parte de nuestro compromiso de monitorear el estatus de aquellas poblaciones de anfibios que no pertenecen a nuestra lista de **EdI,** hemos colectado muestras de piel de todos los anfibios observados, las cuales serán analizadas mediante la técnica de PCR cuantitativo, para determinar la presencia/prevalencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (**Bd)** en la zona y nos mantenemos colectando datos de los parámetros ambientales en cada uno de los sitios visitados. Gracias a lo anterior, hemos podido verificar que el hongo Bd en efecto se encuentra en el área de

desarrollo del proyecto, lo cual incrementa los riesgos y amenazas que enfrentan nuestras **EdI—Anfibios**.

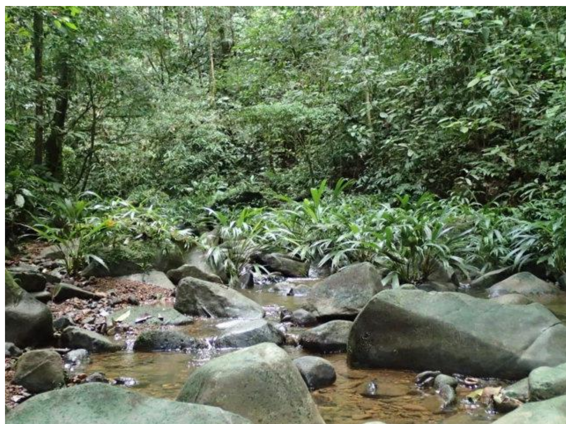


Foto1. Quebrada Valle Grande, hábitat típico de *A. varius*



Foto 2. Instrumentos para toma de datos de campo

Desde inicios del presente trimestre, el 1 de Octubre, 2014 a finales del mes de Enero hemos colectado un total de 40 individuos divididos de la siguiente forma; 3 *Craugastor evanesco* provenientes de Quebrada/Río Petaquilla Cabecera, 32 *Atelopus varius* (17machos.11hembras.4juveniles). En cuanto al proyecto PARC se lograron colectar 5 individuos machos de *A. varius*, siguiendo las instrucciones de los veterinarios de dicho proyecto de colectar solamente 5 individuos por gira para ser llevados al proyecto PARC-Gamboa. Adicionalmente es importante mencionar que los animales colectados en las giras de campo realizadas con el personal de **STRI**, seguimos los protocolos de colecta recomendados por los directores y veterinarios de dicho proyecto. Lo anterior debido al supuesto propósito de reducir las posibilidades de contaminación de patógenos (*Fusarium spp*, *Bd*) en campo, los cuales eventualmente podrían afectar a los animales después de ser incorporados al programas de manejo *ex situ.*

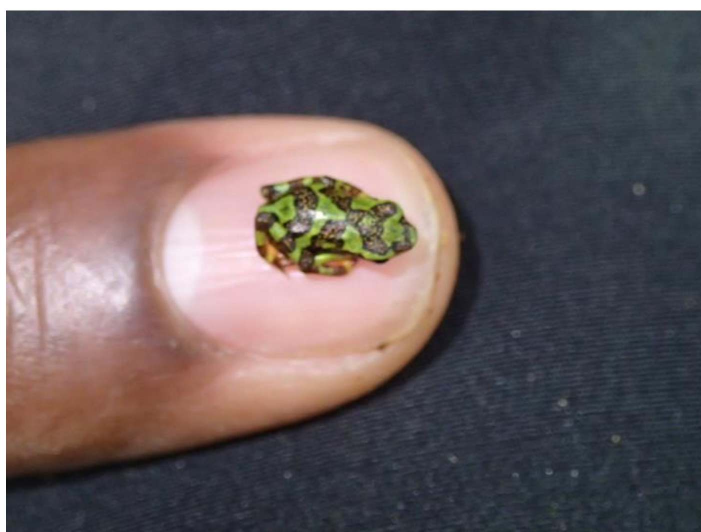


Foto 3. Juvenil de *A. varius* encontrado en Quebrada Valle Grande (no colectado)

De manera simultanea hemos colectado 68 muestras de piel de anuros de las zonas visitadas para análisis de PCR y diagnóstico del hongo *Bd*, y esperamos también estar en capacidad para diagnosticar, *Fusarium* spp, las mismas corresponden a un total de 11 especies de anfibios encontrados dentro de la concesión.

Como se puede apreciar en la Tabla 1, durante los meses de octubre a diciembre 2014, hemos realizado un total de 2 giras nocturnas y 10 diurnas, en las cuales visitamos 4 sitios diferentes en

busca de las Especies de Interés. En el mes de enero, 2015 realizamos un total de 6 giras a 3 sitios diferentes, tal como se ve en la tabla 2.

Tabla 1. Sitios mas relevantes visitados por fecha y número de individuos colectados/muestreados por sitio desde Octubre a Diciembre, 2014.

Sitio visitado	**Fecha de visita**	**Animales colectados/visita**	**EdI—Anfibios colectados**	**Muestras de piel**	**Tipo de visita**	**Comentario**
Q. Valle Grande	01 Oct. 14	0	--	3	Diurna	No colectamos
Q. Valle Grande	08 Oct. 14	5	5—*Atelopus varius*	10 (dos c/u)	Diurna	2 machos (m), 1 hembra (h), 2 juveniles (j)
Q. Valle Grande	09 Oct. 14	5	5--*Atelopus varius*	6	Diurna	3 m y 2 h, 2 parejas en amplexus
Q. Valle Grande	10 Oct. 14	2	2--*Atelopus varius*	12	Diurna	Sólo colectamos 2 individuos (1h y 1 j)
Q. Valle Grande	13 Oct. 14	1	1--*Atelopus varius*	2	Diurna	Sólo colectamos 1 (h joven)
Q. Valle Grande	22 Oct. 14	6	6--*Atelopus varius*	12	Diurna	Sólo colectamos 6 (2 m y 4 h)
Quebrada Petaquilla	23 Oct. 14	3	3--*Craugastor evanesco*	6	Nocturna	1 macho y 2 juveniles
Q. Petaquilla	24 Oct. 14	0	--	2	Nocturna	No se observaron EdI's
Río del Medio	18 Nov. 14	**0**	--	--	Diurna	Remoción de censores de HR y temperatura
Q. Valle Grande	18 Nov. 14	**7**	7—*A. varius*	6	Diurna	2 para EVACC (1.1) 5 a Gamboa
Q. Valle Grande	19 Nov. 14	**0**	--	--	Diurna	No se observaron EdI's.
Q. Valle Grande	18 Dic. 14	**0**	--	--	Diurna	No se observaron EdI's.
	Total EdI Colectados	**29**	**Total muestras de piel**	**59**		

Tabla 2. Sitios mas relevantes visitados por fecha y número de individuos colectados/muestreados por sitio durante el mes de Enero 2015.

Sitio visitado	**Fecha de visita**	**Animales colectados/visita**	**EdI—Anfibios colectados**	**Muestras de piel**	**Tipo de visita**	**Comentario**
Camino acceso túneles de decantación	15 Ene. 15	0	--	1	Diurna	No colectamos
Q. Valle Grande	16 Ene. 15	1	1—*Atelopus varius*	2	Diurna	1 Juvenil colectado
Q. Valle Grande	27 Ene. 15	2	2--*Atelopus varius*	2	Diurna	1 Macho y 1 juvenil
Q. Valle Grande	28 Ene. 2015	1	1--*Atelopus varius*	4	Diurna	Sólo colectamos 1 macho
Q. Petaquilla	29 Ene. 15	--	--	--	Diurna	Descarga de datos de censores Temp. y HR.
Q. Valle Grande	30 Ene. 15	3	3--*Atelopus varius*	4	Diurna	Sólo colectamos 3 (2 machos 1 hembra)
	Total EdI Colectados	7	**Total muestras de piel**	13		

En este periodo las actividades de colecta fueron relativamente altas para la especie *Atelopus varius*, es claro que en el ultimo trimestre del pasado 2014, fue cuando la especie presento un pico en su actividad reproductiva en la Quebrada Valle Grande, por lo cual logramos colectar varias parejas en "amplexus" e incluso hembras grávidas a lo largo de dicha quebrada.


Foto 4. Hembra *A. varius* con huevos QVG.


Foto 5. Personal de construcción de puerto (charla de EdI)

En el mes de Diciembre, 2014 aprovechamos nuestra visita para dar una charla sobre las **EdI** Anfibios a 25 trabajadores del área de construcción de puerto, en las instalaciones de Punta Rincón. Adicional en este periodo también instalamos censores para registrar Temperatura del Agua, Humedad Relativa y Temperatura Ambiental en la Cabecera de Rió Petaquilla, sitio donde hemos realizado colectas de las especies *C. evanesco y Gastrotheca cornuta.*

3. Mantenimiento de animales colectados en las instalaciones de EVACC (trabajo en laboratorio)

o Cuarentena

Una vez los individuos han sido colectados y mantenidos temporalmente en el contenedor para anfibios ubicado en **MPSA** (Vivero), los mismos son "empacados" y trasladados cuidadosamente a EVACC, en El Valle de Antón, siguiendo nuestro protocolo interno de transporte seguro para los individuos colectados.
A medida que avanzamos con los trabajos de búsqueda, rescate y transporte de animales desde **MPSA** a **EVACC**, los mismos son sometidos a un riguroso proceso de cuarentena, siguiendo normas de bioseguridad específicas (de acuerdo a la especie). Durante el proceso de cuarentena, en la mayoría de las ocasiones, los animales son tratados con una solución antimicótica contra el hongo *Bd* y otros patógenos. Adicional a esto, se monitorea la carga parasitaria, mediante análisis continuo de las heces de los animales colectados. Los tratamientos antiparasitarios son administrados de acuerdo a los resultados del análisis fecal. Una vez que los animales colectados se encuentran en las instalaciones del **EVACC**, los mismos son alimentados con una variedad de insectos enriquecidos con vitaminas y minerales esenciales, (tales como; moscas de la fruta de dos especies distintas, grillos domésticos, colembolas, etc.). El tipo y tamaño de los insectos proporcionados, dependerá de la especie y estadío de desarrollo del individuo anfibio. Todos los insectos alimentados, son complementados con vitaminas y minerales necesarios para el bienestar de nuestros animales (Ejm. Calcio, Vitamina A, entre otras). Durante el periodo de cuarentena, continuamos aplicando radiación Ultravioleta del tipo B, en cantidades adecuadas y de acuerdo a la dieta, suplemento y lo más importante, la historia natural de la especie.

Todos los animales que se encuentran en cuarentena en EVACC son mantenidos bajo observación estricta por el personal, reportando el mínimo cambio en su comportamiento o aspecto físico. Utilizando además la presencia de heces en los recintos como medida para determinar la asimilación de la dieta ofrecida.

o Anexo de MPSA—EVACC

Durante el mes de Octubre y luego de obtener 3 resultados negativos para la prueba de PCR cuantitativo para diagnostico del hongo *Bd*, trasladamos los animales que se encontraban en cuarentena al ANEXO de MPSA EVACC. En su momento trasladamos un total de 44 individuos divididos en: 13 *A. varius* y 31 *C. evanesco*. En el mes de Diciembre murió un *A. varius* por lo cual sólo mantenemos un total de 12 individuos de dicha especie al momento de redactar el presente informe.

Debido a que decidimos colocar varios individuos de una especie por tanque, todos los animales trasladados de cuarentena al ANEXO fueron fotografiados y catalogados digitalmente para lograr identificarlos en el futuro.



Foto 6. ***Craugastor evanesco*** **trasladado de cuarentena a ANEXO MPSA.**

El edificio ANEXO—MPSA de EVACC, se encuentra listo y tenemos suficiente espacio disponible para albergar cientos de individuos de las 4 Especies de Interés—Anfibios con las que hemos estado y continuaremos trabajando en el futuro próximo.

4. Aspectos clínicos y tratamientos

Como lo reportamos en el pasado informe trimestral, aparentemente no sólo tenemos que ocuparnos de "curar" a los animales colectados del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis,* sino también de un nuevo hongo patógeno / oportunista que ha estado involucrado en las muertes de los animales colectados en el pasado. Se trata de una cepa muy letal del hongo del genero *Fusarium,* hemos determinado que si administramos tratamientos para controlar el Bd solamente, eventualmente los animales tratados mueren por una infección cutánea secundaria causada por *Fusarium spp.*

Hasta el momento hemos logrado tratar con cierto grado de éxito a nuestros animales contra el *Fusarium spp,* utilizando un antiséptico de amplio espectro en solución con otros compuestos y de acuerdo a los resultados de PCR para diagnostico del *Bd*, decidimos si es necesario tratar o no a los individuos colectados contra dicho hongo.



Foto 7. ***A. varius*** **posiblemente *"*infectada con *Fusarium"***



Foto 8. Región ventral con piel desprendida e irritada

Mediante la aplicación del tratamiento que hemos desarrollado en EVACC, hemos logrado detener o revertir los efectos letales del "hongo *Fusarium"* en nuestros animales, logrando así reducir la marcada taza de mortalidad que hemos registrado en el pasado. Sabemos que es necesario hacer estudios minuciosos a cerca de la infección y los posibles tratamientos efectivos que puedan ser aplicados para controlar la infección.



Foto. 9 Dorsal macho *A. varius infectado con* Fusarium



Foto 10. Vista ventral del macho *A. varius* infectado

Adicional a los tratamientos que estamos suministrando a los animales afectados, también complementamos la dieta de los mismos y adicionamos radiación Ultravioleta del tipo B a todos los animales que mantenemos en nuestra cuarentena.

En el mes de Diciembre 2014, en colaboración con investigadores y colegas del proyecto *Atelopus*, cuyo objetivo es colectar datos ecológicos y muestras biológicas de las diferentes especies de *Atelopus* que aun sobreviven en estado salvaje, con el propósito de intentar determinar la (s) estrategias biológicas o ecológicas que les han permitido a estos individuos sobrevivir y superar los efectos negativos causados por la Quitridiomicosis, colectamos muestras de compuestos peptídico que asumimos se encuentran en la piel de los *Atelopus varius* mantenidos en la cuarentena de EVACC. Mediante este estudio podremos determinar si nuestros animales poseen péptidos naturales en su piel, los cuales le ayudarían a combatir efectivamente la Quitridiomicosis.



Foto 11. E. Griffith colectando muestras de Péptidos Antimicrobianos en piel de *A. varius*

Dado que el proceso de colecta de los Péptidos Antimicrobianos de la piel de anfibios o AMPs (siglas en ingles) es un procedimiento invasivo, sólo decidimos colectar muestras de diez animales, los cuales han sido monitoreados muy de cerca desde el momento de toma de la muestra y hasta la fecha los mismos no han presentado efectos colaterales visibles asociados al proceso de colección de dichas muestras. Los beneficios potenciales que podríamos obtener de estos experimentos se traducen en una posible forma de combatir la quitridiomicosis de manera efectiva utilizando las defensas naturales de las especies involucradas.

En EVACC mantenemos un monitoreo constante de la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, mediante la colecta de muestras de piel y análisis de ADN cuantitativo (qPCR), especialmente cuado se incorporan animales nuevos a nuestra cuarentena. Durante el mes de Diciembre realizamos dos muestreos y análisis de qPCR de todos los animales mantenidos en nuestra cuarentena ANEXO MPSA, totalizando más de 200 muestras analizadas. A la fecha sólo mantenemos 7 animales positivos para el hongo *Bd*, estamos a la espera de los resultados de un tercer juego de muestras y de acuerdo a dichos resultados procederemos a evacuar/tratar todos los animales de cuarentena, (negativos y positivos por tercera ves respectivamente).



Foto 12. *A. varius* mudando piel en exceso (no es normal)



Foto 13. Muestras de piel para análisis qPCR de EVACC

5. Reproducción en cautiverio

Durante los meses de Octubre y Noviembre y debido a nuestra constante presencia en campo durante este tiempo, logramos colectar 10 hembras de *Atelopus varius*, la mayoría de ellas en amplexus, grávidas (con huevos y listas para reproducirse) o algunas que afortunadamente ya habían depositado huevos en la quebrada. En total colectamos 4 parejas en amplexus, las cuales

una vez fueron transportadas a cuarentena de EVACC, las mismas fueron colocadas en tanques de reproducción. Es importante y necesario que las hembras de esta especie desoven los huevos de cada periodo reproductivo, de no hacerlo lo mas probable es que dicha la hembra muera por septicemia y complicaciones asociadas a la tenencia de los huevos por periodos prolongados.



Foto. 14. Amplexus *A. varius* QVG, trasladado a EVACC.



Foto 15. Hembra *A. varius* QVG, depositado huevos en campo.

Mientras el macho y la hembra se encontraba en *amplexus* dentro de los tanques de reproducción de cuarentena, los mismos fueron alimentados y los tanques aseados diariamente. Una vez los huevos fueron depositados, procedimos a remover los adultos, dejando solamente los huevos dentro del tanque y monitoreamos muy de cerca la presencia de desarrollo embrionario en los mismos.



Foto 16. Tanque de reproducción *A. varius* cuarentena



Foto 17. Huevos *A. varius* fertilizados en cuarentena EVACC

Durante los meses de Noviembre y Diciembre obtuvimos un total de tres masas de huevos de tres parejas diferentes, de las cuales sólo dos fueron fertilizadas. Al momento de redactar el presente informe, contamos con dos grupos de renacuajos, los cuales estarán listos para la metamorfosis a finales del mes de Febrero y Marzo respectivamente.

En estos momentos tenemos dos hembras grávidas o con huevos, listas para reproducirse en cuarentena y estaremos haciendo los arreglos necesarios para colocar dichos animales en situación reproductiva.

Las actividades necesarias para mantener los renacuajos vivos y saludables son las siguientes; tomar lecturas del pH y temperatura del agua varias veces al día, hacer cambios del 50% del agua de los tanques con renacuajos una vez al día, alimentar dos a tres veces en el transcurso del día, limpieza y cambio de los filtros, mantener las barreras aislantes de renacuajos en posición adecuada para evitar que la bomba de agua dentro de cada tanque succione a los renacuajos,

colocar paquetes de hielo en los tanque para mantener la temperatura ideal del agua, en general es una trabajo constante que requiere la presencia de personal en el área casi constantemente.



Foto 18. Temperatura dentro y fuera de cuarentena



Foto 19. Temperatura max. dentro del tanque de renacuajos

Los eventos reproductivos que están teniendo lugar en la cuarentena de EVACC, a pesar de no haber ocurrido al 100 % en cautiverio (dado que las hembras venían grávidas de campo) son de suma importancia para la conservación de la especie *A. varius* y representan la primera vez en que dicha especie es “reproducida” bajo condiciones de cautiverio.

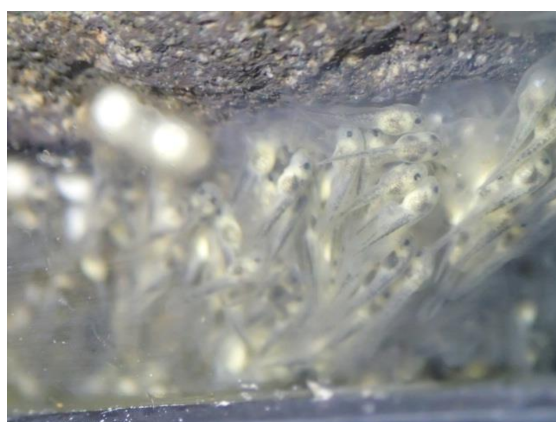


Foto 20. Renacuajos *A. varius* 3-5 días de eclosión



Foto 21. Renacuajo *A. varius* 35 días de eclosión en EVACC

6. Conclusiones

Al momento de la elaboración del presente informe en el ANEXO MPSA contamos con un total de 12 *Atelopus varius* (11 machos y 1 juveniles) y 31 *Craugastor evanescos* (proporción del sexo desconocida) provenientes de dos poblaciones del área de la Concesión del Proyecto Cobre Panamá.

Mientras que en cuarentena de EVACC tenemos con 29 *A. varius* (16 machos, 9 hembras y 4 juveniles), 9 *C. evanesco* (proporción de sexo desconocida) y 1 macho de *G. Cornuta*, todos provenientes del área del Proyecto de Minera Panamá.

En estos últimos meses nos hemos enfocado en la reproducción de la especie *A. varius* y en mantener a nuestros animales vivos y saludables dentro de nuestras instalaciones.
Es importante señalar que por primera vez se logra la reproducción (parcial) en cautiverio de la especie *A. vaurius* de tierras bajas, lo cual representa un avance importante para la conservación de la especie en el futuro próximo.



Foto 22. Tanque de reproducción *A. varius* en cuarentena



Foto 23. Recintos con *A. varius* en cuarentena

Mediante la aplicación de un estricto protocolo de higiene y bioseguridad, estamos logrando reducir la taza de mortalidad de los animales colectados en el área de la concesión del proyecto Mina de Cobre Panamá.

En cuanto al trabajo de campo, planeamos continuar con nuestro programa de búsqueda de las **EdI**, dentro del área del Proyectoy esperamos que para finales del presente año, hayamos logrado colectar los números de individuos machos y hembras de cada una de las 4 **EdI**—**Anfibios** necesarios para continuar con los esfuerzos de reproducción de dichas especies en cautiverio.

En este sentido, hemos establecido varios transectos en el área de Quebrada Valle Grande, para poder hacer estimados estadísticos de distribución y abundancia de la especie *Atelopus varius*, en el área.

En el aspecto clínico--diagnostico, informamos que estamos haciendo las gestiones necesarias para la aplicación a un permiso de exportación (ANAM—MIDA) para cadáveres de los animales que han muerto en la cuarentena de EVACC y ANEXO MPSA, los cuales serán enviados a la Sociedad Zoológica de San Diego, California, USA, para hacer los estudios histopatológicos necesarios y determinar así, la causa de muerte.